

Màster oficial Zoonòsis i una sola salut



Autora:

Sara Hermosa Garcia

Tutors:

Dr. Xavier Abad Morejón de Girón

Dr. Artur Xavier Roig Sagués



Màster oficial Zoonòsis i una sola salut

TRACTAMENT DE CARCASSES ANIMALS EN INTAL·LACIONS D'ALTA BIOCONTENCIÓ.

Autora:

Sara Hermosa Garcia

Director:

Dr. Xavier Abad Morejón de Girón

Tutor:

Dr. Artur Xavier Roig Sagués

2018-2019

ÍNDEX

Abstract.....	1
Introducció.....	2
Objectiu	8
Materials i mètodes.....	9
Descripció crítica de mètodes de tractament de carcasses.....	10
1.Incineració.....	10
1.1.Crema a l'aire lliure.....	10
1.2.Incineració per cortines d'aire.....	11
1.3.Incineració en instal·lacions fixes.....	11
2.Hidròlisi alcalina.....	14
3.Autoclau.....	19
Discussió.....	24
Conclusions.....	27
Referències.....	28

Índex figures

Figura 1. Components d'un incinerador en un laboratori de biocontenció.....	13
Figura 2. Incinerador present al CReSA.....	13
Figura 3. Digestor d'hidròlisi alcalina present a CReSA.....	14
Figura 4. Detall del digestor d'hidròlisi alcalina present a CReSA.....	14
Figura5. Pantalla de control del digestor present al CReSA.....	18

Abstract

A les instal·lacions de bioseguretat de nivell 3 (abreujadament NBS3), o instal·lacions d'alta biocontenció, es treballa principalment amb patògens que afecten greument els animals. No obstant, també es pot treballar amb patògens zoonòtics, és a dir, que poden transmetre's i afectar als éssers humans. És per això que és de vital importància que es duguin a terme mètodes d'eliminació de les carcasses dels animals d'experimentació que siguin eficaços pel que fa a la inactivació dels patògens.

Existeixen diversos mètodes clàssics d'eliminació de les carcasses com ara l'enterrament, el *rendering* i el compostatge. No obstant, els mètodes utilitzats a les instal·lacions d'alta biocontenció, o NBS3, serien altres com la incineració, la hidròlisi alcalina o l'autoclau ja que proporcionen una inactivació adequada i completa dels patògens que es tracten.

En la present revisió s'exposen diferents aspectes de cadascun dels mètodes d'inactivació de carcasses com la funcionalitat, aspectes econòmics, ambientals, avantatges, desavantatges, etc. D'aquesta manera es fa una comparació dels mètodes principals veient que tant la hidròlisi alcalina com la incineració són els millors candidats actualment a ser utilitzats en aquestes instal·lacions.

Introducció

Les instal·lacions de bioseguretat de nivell 3 (NBS3, o BSL-3, Biosafety Level 3, en anglès), també anomenades, instal·lacions d'alta biocontenció, són instal·lacions clíniques, diagnòstiques, de recerca o de producció on es treballa amb agents exòtics amb alt potencial de transmissió als operadors i que poden causar infeccions greus i potencialment letals i greus conseqüències econòmiques si s'alliberen.

Les carcasses dels animals experimentals en aquests laboratoris contenen patògens virulents que generen riscos ja que la seva manipulació pot amenaçar la salut pública (Wang *et al.*, 2016). Per aquest motiu és important que l'eliminació de les carcasses es produeixi el més aviat possible després de la mort de l'animal (Biosecurity, 2017).

Existeixen diverses opcions per a l'eliminació de les carcasses, incloent els mètodes com la renderització, la incineració, l'enterrament, el compostatge, l'autoclau o la hidròlisi alcalina. Cada opció té un conjunt d'avantatges i inconvenients que s'han de tenir en compte durant la planificació i abans de l'eliminació (Rahman *et al.*, 2017).

Els elements crítics que cal tenir en compte en la planificació i implementació inclouen:

- En primer lloc, la salut i seguretat ocupacional. Els treballadors han d'estar protegits contra els riscos de manipular les carcasses en descomposició dels animals morts prestant especial atenció als aspectes zoonòtics. Aquesta protecció consta de roba protectora, guants, màscares facials, barreres respiratòries efectives, ulleres i altres mesures com disponibilitat de vacunes i medicaments antivirals eficaços.
- El segon element crític seria la inactivació de patògens, és a dir, cal seleccionar el procediment d'eliminació per assolir la inactivació dels agents patògens.
- Per últim, cal tenir en compte les preocupacions ambientals. Els diferents mètodes d'eliminació de carcasses tenen diferents efectes sobre el medi ambient. Per exemple, la crema produirà fum i olors; l'enterrament pot portar a la producció de gas i lixiviats produint una contaminació potencial de l'aire, el sòl, la superfície i l'aigua superficial (OIE, 2018).

Les estratègies d'eliminació més efectives seran les que explotin totes les opcions d'eliminació disponibles i adequades en la mesura del possible. El mètode de disposició hauria de ser segur, pràctic i econòmic (Ia *et al.*, 2017).

Els mètodes tradicionals com l'enterrament, el *rendering* i el compostatge no són utilitzats en les instal·lacions d'alta biocontenció (o NBS3) principalment per motius com la pròpia impossibilitat física al primer cas i la possible contaminació de les aigües o de l'aire, quantitat d'animals, cost econòmic, etc. (Ia *et al.*, 2017).

L'enterrament és un mètode que consisteix en l'eliminació de les carcasses dels animals enterrant-les en tombes, trinxeres o contenidors, també anomenats pous de mortalitat (Ia *et al.*, 2017). Pel que fa a l'eliminació per trinxeres, consisteix en l'excavació d'un canal al terra, la introducció de les carcasses i seguidament es cobreixen amb el material excavat (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004). Per tal de realitzar aquest tipus d'enterrament no es requereix cap equipament especialitzat i normalment els equips d'excavació de gran capacitat solen estar disponibles per empreses que lloguen l'equip (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Koziel *et al.*, 2018). Aquesta opció per a l'eliminació de les carcasses és relativament econòmica ja que segons la informació recollida per Sparks Companies (2002) en el cas de l'enterrament per trinxeres el cost per carcassa gran seria d'uns 15\$ o d'uns 7-8\$ si la carcassa és petita (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Els abocadors estan dissenyats i construïts amb sistemes complexos per tal de protegir el medi ambient. En cas d'emergència, molts cops el temps és important i els abocadors constitueixen una solució preexistent i de disponibilitat immediata. A més la quantitat de volum que es pot eliminar en aquestes infraestructures és relativament gran (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

El temps necessari per tal de descompondre les carcasses dels animals depèn majoritàriament de la temperatura, la humitat i la profunditat del canal, però també del tipus de terra i el drenatge, l'espècie i la mida dels animals, la pluja i altres factors (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Ia *et al.*, 2017).

Un gran desavantatge d'aquest mètode d'eliminació de carcasses és la contaminació química i microbiana de les aigües subterrànies que es pot arribar a produir. A més, es poden generar també olors ofensius pels processos anaeròbics que són responsables de la descomposició de les carcasses (Koziel *et al.*, 2018).

El compostatge és un procés natural de descomposició biològica que es produeix en presència d'oxigen (Disposal Group Health Service *et al.*, 2004; OIE *et al.*, 2018) i es pot dur a terme en tres tipus d'instal·lacions diferents: contenidors, minicomponedors i piles estàtiques, en anglès “windrows”, (Rahman *et al.*, 2017). Aquest mètode consisteix en tenir les carcasses dels animals entre estrats d'un substrat ric en carboni com ara palla o encenalls de fusta i cobrir tota la pila final amb un altre substrat ric en carboni (Gwyther *et al.*, 2011; Ia *et al.*, 2017). El temps de descomposició depèn del pes de les carcasses, normalment el material de rebuig es descompon a una velocitat d'entre 1 a 2 kg/ dia fins arribar a un producte útil com a adob del sòl (Gwyther *et al.*, 2011; Ia, *et al.*, 2017).

Aquest procés es duu a terme en dues fases; en la primera fase, la temperatura de la pila augmenta, els materials orgànics es descomponen en compostos relativament petits, els teixits tous es descomponen i els ossos s'estoven parcialment. En la segona fase, els materials restants, principalment ossos, es descomponen completament en un humus marró fosc o negre que conté principalment bacteris no patogènics i nutrients vegetals (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; OIE *et al.*, 2018).

Per tal que els patògens siguin completament destruïts és rellevant que tant el flux d'aire com la temperatura siguin uniformes ja que sinó la supervivència dels patògens pot variar en diferents àrees del material subjecte a compostat (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Pel que fa a la bioseguretat, les instal·lacions de compostatge no s'han de situar al costat de les unitats de producció ramadera. Per tal que la contaminació sigui mínima, el procés de compostatge s'ha de dur a terme amb agents com ara fonts de carboni o encenalls de fusta (bulking agents) que absorbeixin els excessos de líquids produïts a partir de les carcasses descompostes i mantinguin la pila de compostatge airejada (Sciences Department of Crop and Soil University Cornell, 2005). A més, si aquest mètode es realitza sota cobertes, pel tal d'evitar

l'entrada d'aigua de la pluja, també es redueix molt el risc de contaminació. Pel que fa a l'emissió de gasos, els nivells d'olors que es produeixen a partir del compostatge es consideren baixos (Gwyther *et al.*, 2011; Ia *et al.*, 2017).

El *rendering* és un procés que consisteix en la conversió de les carcasses dels animals en petites proporcions uniformes separant els greixos, el material proteic i l'aigua (Ia *et al.*, 2017). Aquesta conversió es duu a terme mitjançant processos mecànics com la trituració, processos tèrmics com per exemple el cuinat, o bé per processos químics com l'extracció de dissolvents (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Blake *et al.*, 2008). Mitjançant el tractament tèrmic s'augmenta significativament que els productes puguin romandre emmagatzemats ja que es produeix la mort dels microorganismes presents i s'elimina la humitat necessària per a l'activitat microbiana (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Ia *et al.*, 2017). Si els processos es fan adequadament, en acabat s'obtenen productes finals segurs i valuosos per al consum animal o bé com a fertilitzants (Blake *et al.*, 2008).

Les carcasses dels animals s'han de tractar el més aviat possible ja que en una etapa avançada del deteriorament els productes que resulten del tractament són de baixa qualitat. En cas que sigui necessari emmagatzemar les carcasses aquestes s'han de refrigerar per tal d'evitar el deteriorament (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Blake *et al.*, 2008).

Alguns avantatges que presenta el mètode de *rendering* inclouen la obtenció d'una font de proteïnes per al consum animal, i que és un mètode higiènic d'eliminació d'animals morts. A més, els productes que s'obtenen a partir d'aquest mètode tenen valor econòmic, es poden emmagatzemar durant llargs períodes de temps, i si es produeixen en les condicions adequades, aquests productes estan lliures de bacteris patògens i d'olors desagradables (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Pel que fa a la contaminació ambiental, el més preocupant són les emissions gasoses i les olors. Tot i així, les olors es poden eliminar mitjançant el rentat amb aigua freda o utilitzant biofiltres. (Ia *et al.*, 2017). Per altra banda, també es poden generar efluents sòlids, olivosos o de greixos que es poden evitar amb el filtratge o el tractament de les aigües residuals a les instal·lacions adequades (Ia *et al.*, 2017).

Per altra banda, s'han desenvolupat nous mètodes d'eliminació de carcasses com la hidròlisi alcalina, altrament anomenada digestió alcalina, procés pel qual la calor i la pressió juntament amb el d'hidròxid de sodi (NaOH) o hidròxid de potassi (KOH) dissolen i esterilitzen les canals d'animals en una solució líquida final. Els productes d'hidròlisi alcalina consisteixen en una solució estèril, restes òssies fràgils i poca olor. A més en estudis realitzats per Neyens *et al.*, 2003 o Murphy *et al.*, 2009 entre d'altres, s'ha vist que la hidròlisi alcalina pot destruir per complet totes les classes representatives d'agents potencialment infecciosos incloent prions (Wang *et al.*, 2016). Els hidrolitzats alcalins són rics en nutrients i es podrien reutilitzar com a biofertilitzants i additius de compost (Wang *et al.*, 2016).

Una altre opció seria l'autoclau. Aquest mètode consisteix en la utilització de vapor d'alta pressió i alta temperatura per matar microorganismes i fer inactiu el material perillós. L'ús de l'autoclau és un mitjà adequat per a l'esterilització de material potencialment infecciosos, i es requereix com a equipament per a treballs en alta contenció (Santacrose *et al.*, 2015).

L'autoclau no és el mètode recomanat per descontaminar grans volums de residus perquè el temps necessari per al processament és massa llarg i la mida de la càmera sol ser massa petita (Practices *et al.*, 1989). La manca de reducció del volum i el fracàs del procés d'esterilització per autoclau per fer que les parts del cos no siguin reconeixibles també són limitacions d'aquest procés (Practices *et al.*, 1989).

Per últim, les carcasses dels animals també poden ser eliminades mitjançant la incineració. Aquest mètode consisteix en la crema de les carcasses dels animals a altes temperatures fins a l'obtenció de les cendres (Ia *et al.*, 2017). Existeixen tres mètodes diferents d'incineració: la crema a l'aire lliure, la incineració per cortines i la incineració en instal·lacions fixes. L'eficiència i el rendiment de la incineració depèn de la espècie que es crema. Com més percentatge de greix tingui l'animal, més eficientment es cremarà la carcassa (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004). Aquest procés elimina tots els agents infecciosos i les cendres que s'obtenen representen entre l'1 i el 5% del volum inicial de la carcassa (Ia *et al.*, 2017).

Ja sigui per la presència d'animals infectats de manera accidental o natural, per accions bioterroristes o bé a resultes de l'experimentació animal, la mort natural o sacrifici dels animals infectats suposa un desafiament en l'eliminació de les carcasses ja que si aquesta no es duu a

terme de manera ràpida i eficaç es poden donar problemes importants de bioseguretat, econòmics, socials, etc. (Disposal Carcass Group et al., 2004). És per això que cal conèixer en profunditat cadascun dels mètodes d'eliminació de carcasses mencionats anteriorment a nivell de avantatges, desavantatges, impacte econòmic i ambiental, etc. Així doncs, aquesta revisió pretén fer un anàlisi dels mètodes disponibles i així valorar l'ús de cadascun d'ells en una instal·lació d'alta biocontenció.

Objectiu

Aquest treball té com a objectiu final fer una revisió dels mètodes d'eliminació de carcasses disponibles en l'actualitat aplicables a una Unitat d'Alta Biocontenció. De totes les opcions possibles es farà una descripció d'aquelles emprades a instal·lacions de bioseguretat de nivell 3 centrada en aspectes de rendiment, paràmetres crítics, avantatges, desavantatges, impacte econòmic i ambiental entre d'altres. A més, d'alguns dels tractaments més recents es valoraran els mètodes de validació necessaris per a la implementació dels esmentats tractaments a les Unitats d'Alta Biocontenció.

Materials i mètodes

L'elaboració d'aquest treball ha estat mitjançant la cerca d'informació a diferents fonts com ara llibres, revistes, articles, pàgines web, etc.

Per a la recerca on-line dels articles s'han utilitzat paraules clau en anglès com ara “Animal carcass disposal”, “Carcass disposal methods”, “Dead animal disposal”, entre d'altres. En primer lloc es va fer una cerca general dels diferents mètodes i seguidament es va fer una cerca més específica d'aquells mètodes en que trobar informació va ser més difícil com ara l'autoclau. Per altra banda, també s'han realitzat visites al CReSA (*Centre de Recerca en Sanitat Animal*) per tal de poder observar els tractaments de carcasses que es duen a terme a la Unitat d'alta biocontenció que es troba en aquest centre.

Descripció crítica de mètodes de tractament de carcasses

1. Incineració

La incineració és un mètode que s'ha considerat històricament important per a la eliminació de carcasses animals (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004). Es tracta d'un mètode de destrucció tèrmic que consta en la crema de les carcasses a altes temperatures fins a convertir-les en cendres inorgàniques (Ia *et al.*, 2017; Rahman *et al.*, 2017). Existeixen tres mètodes diferents d'incineració: la crema a l'aire lliure, la incineració per cortines i la incineració en instal·lacions fixes (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Ia *et al.*, 2017) que condueixen les tres a l'obtenció final de cendres.

1.1. Crema a l'aire lliure

Es tracta d'un mètode de gran antiguitat i que ha persistit al llarg de la història com a mitjà per a l'eliminació de les carcasses però que actualment ha de ser complementat o substituït per altres mètodes (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004) degut a una major preocupació ambiental.

La crema a l'aire lliure es pot dur a terme en camps oberts, en munts de combustible anomenats pires, grans focs o amb altres tècniques que no necessiten equipament d'incineració (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004). Els requeriments necessaris per a la crema a l'aire lliure inclouen l'addició de material combustible com ara la fusta o palla així com additius de combustible com ara el dièsel per tal d'aconseguir la temperatura adient per a la completa destrucció de les carcasses (Ellis 2001; Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

El factor crític per a la localització del lloc de la incineració és la direcció dels vents i que el lloc no estigui a la vista del públic (Ellis 2001; Disposal Carcass Group *et al.*, 2004). Per a incineracions que impliquen mil carcasses o més, al Regne Unit es recomana, per part del Departament de Salut, una distància mínima de 3 quilòmetres de les comunitats locals per tal d'evitar l'exposició continuada dels ciutadans als fums (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Scudamore *et al.*, 2015). Aquesta mesura pot comportar problemes al limitar els llocs adequats per a la instal·lació dels incineradors o el transport de les carcasses.

Aquest tipus d'incineració no està permesa en molts països o estats i no és el tipus d'incineració emprat als laboratoris d'Alta Bioseguretat, òbviament.

1.2. Incineració per cortines d'aire

La incineració per cortina d'aire és una tecnologia relativament nova i que s'utilitza sobretot en cas de grans desastres naturals per tal d'eliminar carcasses combustibles (Ellis 2001; Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Aquest mètode consisteix en un sistema de ventiladors connectats a conductes que generen una massa d'aire i la transmeten a gran velocitat a una fossa. D'aquesta manera la incineració s'accelera fins a sis vegades més que en la crema a l'aire lliure (Ellis 2001; Disposal Carcass Group *et al.*, 2004). El corrent d'aire que es genera s'envia cap avall a una velocitat i un angle determinats de manera que es crea un mini cicló dins de la fossa. La pressió descendent de l'aire que entra provoca la destrucció, crema, de tot el material generant molt poc fum i poques olors (Ellis, 2001).

La incineració per cortines d'aire presenta certs avantatges com ara que són portàtils, és un mètode relativament ecològic i es poden incinerar restes vegetals (com a font de combustible) al mateix temps que les carcasses. Per altra banda, també hi han certs inconvenients com, per exemple, el cost i la disponibilitat dels incineradors i la quantitat excessiva de combustible que pot requerir en funció del volum que es vol incinerar (Ellis, 2001).

1.3. Incineració en instal·lacions fixes

L'ús dels incineradors per a la eliminació de les carcasses d'animals petits en les explotacions s'ha realitzat durant molt de temps tant al nord d'Amèrica com a Europa. Els incineradors d'instal·lacions fixes avui en dia inclouen: petits incineradors a les granges, instal·lacions d'incineració tant petites com grans, crematoris i incineradores de centrals elèctriques (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Aquest tipus d'incineració es troba continguda i normalment molt controlada a diferència de la incineració a l'aire lliure o per cortines d'aire. Els incineradors necessiten gasoil, gas natural o propà per al seu funcionament, no obstant, els nous incineradors estan equipats amb càmeres post-combustió dissenyades per a la crema completa dels gasos d'hidrocarburs i partícules que surten de la cambra de combustió principal (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Aquells incineradors que consten únicament d'una cambra, no són els més adequats per tractar amb materials infecciosos o carcasses d'animals ja que els materials poden no quedar totalment destruïts i els fums emesos poden contaminar l'atmosfera amb microorganismes o productes químics tòxics (World Health Organization, 2004). Així doncs, la incineració adequada requeriria un mitjà eficient de control de la temperatura i una cambra de combustió secundària (World Health Organization, 2004).

Pel que fa als laboratoris de biocontenció, la incineració és útil per a l'eliminació de les carcasses d'animals, així com de residus anatòmics i de laboratori, amb o sense la descontaminació prèvia. La incineració de residus contaminats ha de comptar amb l'aprovació de les autoritats sanitàries i aquelles que regulen la contaminació atmosfèrica, així com l'oficial de seguretat biològica del laboratori (World Health Organization, 2004).

Aquest mètode pot ser usat juntament amb a l'autoclau només en el cas que l'incinerador estigui sota control de laboratori.

Existeixen diverses configuracions adequades per a les càmeres de combustió. Idealment, la temperatura de la cambra primària hauria de ser almenys de 800 °C i la de la càmera secundària com a mínim de 1000 °C (World Health Organization, 2004). Els materials a incinerar s'han d'introduir a l'incinerador en bosses o containers amb el codi corresponent indicat. S'ha de tenir en compte que el funcionament eficient d'un incinerador depèn en gran mesura de la barreja adequada de materials en els residus que es tracten (World Health Organization, 2004).

En concret al Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA), centre amb estabulari en biocontenció, els residus sòlids obtinguts després d'un procés experimental amb els animals són eliminats en incineradors amb una cambra de combustió acoblada a un carregador mecànic i una xemeneia (Fig 1 i 2.). El model d'incinerador que es troba en les instal·lacions CReSA és el ROT-600 de KALFRISA que compta amb un elevador pneumàtic de bidons. En aquest cas, tot el control de l'equip es fa mitjançant una pantalla tàctil.

Un cop s'ha posat en marxa l'incinerador, s'ha de prémer el botó "TAPA" i "OBRIR" en la pantalla fins a completar l'obertura de la tapa. Es col·loca el bidó en horitzontal en el suport, s'eleva i es fa caure en el compartiment preparat automàticament. Amb el botó corresponent es fa abaixar el suport i es tanca la tapa. A través de la pantalla tàctil s'obre la porta que porta cap a la cambra de combustió i s'empeny el bidó dins de la cambra automàticament. Un cop el bidó en la cambra, es tanca la porta d'accés i el bidó s'incinera. S'introdueixen bidons cada 5-15 minuts depenent del pes i el contingut de cadascun.

Com ja s'ha dit anteriorment, l'incinerador consta de dues cambres. A la primera cambra és on es produeix la crema dels bidons i es troba a una temperatura d'uns 800°C tot i que a les dues hores pot arribar a superar aquesta temperatura. L'altre part és el reactor en el qual es crema el fum produït a la cambra. Al reactor s'hi introdueix aire a pressió per tal que l'aire circuli cap amunt; la temperatura del reactor és d'uns 850°C tot i que pot arribar als 900°C.

Finalment es procedeix a la recollida de les cendres. Aquest procés no es fa directament en acabar sinó que s'espera entre 3 i 4 dies per tal que estigui tot ben refredat. Es deixa la porta a 1.4 metres d'alçada i es buida el contingut amb una pala. Les cendres es posen en bosses d'autoclau i es pesen. Un cop s'esterilitzen a l'autoclau es poden treure a l'exterior.

El volum d'incineracions oscil·la entre 20.000 i 30.000 kg en un any tot i que varia segons l'any. De la mateixa manera, el número de cicles també es variable podent superar els 50 cicles en un any, encara que normalment està entre 20 i 30.

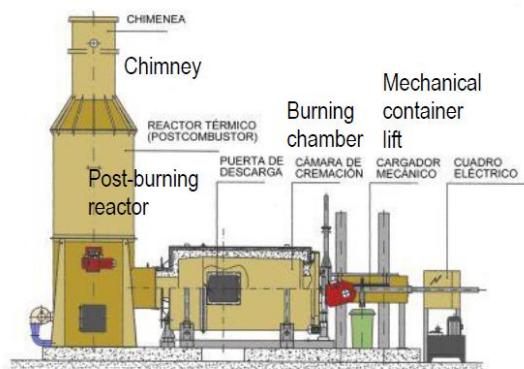


Figura 1. Components d'un incinerador en un laboratori de biocontenció.



Figura 2. Incinerador present al CRESA

L'espècie animal té una gran influència en la velocitat d'incineració de la carcassa. Com més alt sigui el percentatge de greix animal, més eficaç serà la crema de la carcassa. Els porcs, que tenen un contingut relativament alt de greixos, cremen més ràpidament que altres espècies. El rendiment dels incineradors de instal·lacions fixes depèn també de la mida de la cambra (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Els incineradors d'instal·lacions fixes presenten diferents avantatges com, per exemple, que són capaços de reduir la quantitat de material a eliminar en un 95%; per exemple, en el CRESA durant les incineracions dutes a terme al 2018 el material es va reduir entre un 94 i un 98%; que s'utilitzen filtres per a atrapar els contaminants com dioxines, que garanteix la eliminació dels agents infecciosos gràcies a les elevades temperatures, que no es veuen gaire afectats per les

condicions meteorològiques i a més, es poden adquirir incineradors amb dispositius informàtics per a la solució de problemes a distància com en el cas del CReSA.

Per altra banda també existeixen certs inconvenients com ara el cost dels incineradors i del seu manteniment, que es generen gasos com l'òxid de nitrogen durant el procés d'incineració i que es necessita tenir les instal·lacions adequades i personal qualificat per a l'ús de l'incinerador; en el cas del CReSA, hi ha personal específic amb els coneixements necessaris per a dur a terme el procés, i l'entrada a la zona d'incineració està limitada, no es permet a tots els treballadors.

2.Hidròlisis alcalina

Aquest mètode és un procés en el qual a través d'una combinació de calor (procés físic) i pH alt (procés químic) els enllaços peptídics es trenquen convertint les proteïnes en aminoàcids o petits pèptids. També els enllaços esters es converteixen en greixos, els àcids nucleics s'hidrolitzen i els hidrats de carboni es solubilitzen (Homer *et al.*, 2012).

El procediment es basa en la introducció de les carcasses o parts de les carcasses en un recipient d'acer inoxidable i a continuació s'hi afegeix en forma sòlida o en solució una quantitat determinada de NaOH o KOH (Fig 3 i 4.). Seguidament, el recipient es segella i el contingut s'escalfa fins a 150°C entre 3 a 6 hores en funció del volum de la càrrega i de la seva tipologia (The Scientific Steering Committee *et al.*, 2002), entre 3 i 5 vegades la pressió atmosfèrica (recordem que un autoclau treballa a 1 atmosfera de sobre-pressió, aproximadament). Durant el cicle les carcasses dels animals es converteixen en solucions líquides que es poden drenar en acabar el cicle. L'únic material sòlid que queda al final del cicle és una petita quantitat de fragments d'ossos molt porosos que se solen anomenar “bone shadows” terme anglès que fa referència a aquests ossos amb aparença sòlida però que en tocar-los s'esmicolen (Homer *et al.*, 2012).



Figura 3. Digestor d'hidròlisi alcalina present a CReSA.



Figura 4. Detall del digestor d'hidròlisi alcalina present a CReSA.

Tal i com es menciona anteriorment, el temps necessari per a aquest procés depèn en gran mesura dels agents que s'han d'inactivar. Normalment, per als agents com ara bacteris o virus convencionals és suficient amb cicles de quatre hores. No obstant, si les carcasses han estat infectades amb agents transmissibles com ara l'encefalopatia espongiforme (TSE) es recomana fer cicles de sis hores (The Scientific Steering Committee *et al.*, 2002).

En cada cicle s'ha de programar la proporció de KOH a utilitzar. Es recomanat una proporció mínima del 22% de KOH al 45%. Es recomana també que no s'utilitzi més del 25% de KOH per tal d'evitar que s'excedeixi el pH màxim establert de la solució final (Homer *et al.*, 2012).

A més de les carcasses i la solució alcalina, hi ha un altre element clau per a que es pugui donar a terme aquest procés, l'aigua. Aquest component es clau per a trencar els enllaços químics dels components. Si no s'hi afegeix la proporció d'aigua adequada, no es durà a terme la digestió completa deixant proteïnes no digerides i la possibilitat de no inactivar del tot els patògens (BioSAFE Engineering, 2011).

Aquest mètode assegura l'esterilitat de nivell III que es requereix pel STAATT (*US State and Territorial Association on Alternate Treatment Technologies*), que implica la inactivació de bacteris, fongs, virus, paràsits i micobacteris amb una reducció al 99.9999%, és a dir 6 log₁₀, i la inactivació d'espores amb una reducció dels agents formadors d'aquestes del 99.99%, és a dir, 4 log₁₀ (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; Homer *et al.*, 2012).

Segons els experiments de validació de la hidròlisi alcalina duts a terme per Wang *et al.*, 2016 hi ha quatre factors, com a mínim, que afecten en aquest procés. En primer lloc, el temps de tractament en la hidròlisi alcalina és un factor comú que pot influir en el grau d'hidròlisi. S'ha vist que la taxa d'hidròlisi dels teixits va augmentant lentament a mesura que el temps de tractament augmentava de 60 a 300 min a una temperatura constant de 130°C (Wang *et al.*, 2016). La temperatura és un altre factor influent en aquest procés ja que s'ha vist que un augment de la temperatura de 110°C a 150°C pot provocar un ràpid augment de la taxa d'hidròlisi dels teixits. En tercer lloc es troba la concentració de solució alcalina (quantitat de NaOH o KOH usat); s'ha demostrat que la taxa d'hidròlisi o degradació dels teixits va incrementant-se ràpidament amb l'augment de la concentració. Per últim, la relació entre la solució alcalina i el teixit a hidrolitzar (calculada a partir del volum de solució de NaOH o KOH i del pes del teixits animals) també té efecte en aquest procés ja que si s'afegeix poca quantitat de solució alcalina per al volum de teixit a hidrolitzar, no s'aconseguirà una hidrolització completa del material. Per altra part, hi ha una quantitat de solució alcalina suficient i necessària

per a hidrolitzar tot el teixit; si s'afegeix més no millorem la digestió i només es contribueix a una pèrdua econòmica innecessària (Wang et al., 2016).

Un cop acabat el procés, s'obté una solució alcalina i inactivada. Aquesta solució podria ser abocada a un sistema de recollida d'aigües residuals sempre que es compleixi amb els valors límits de pH i temperatura i altres requeriments establerts per la legislació. És per això que en aquest procés és molt important la monitorització del pH, la temperatura i la demanda biològica d'oxigen (DBO). El pH de la solució final normalment està entre 10.3 i 11.5, per aquest motiu a vegades s'ha d'utilitzar diòxid de carboni al final de la digestió per tal d'abaixar el pH fins a rangs de 8 o menys (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

La demanda biològica d'oxigen (quantitat d'oxigen que necessiten els microorganismes per degradar la matèria orgànica biodegradable existent en una aigua residual) d'aquest procés per al material hidrolitzat no diluït té una mitjana d'uns 70.000 mg/L. La demanda d'oxigen és molt alta en comparació amb la de les aigües residuals domèstiques (entre 100 i 400 mg/L) ja que les molècules orgàniques es trenquen fins a aminoàcids, petits pèptids, àcids grassos, monosacàrids o restes de midó que constitueixen nutrients per als microorganismes de les plantes de tractament (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Segons el reportat per Disposal Carcass Group *et al.*, el cost estimat per a l'eliminació de les carcasses mitjançant la hidròlisi alcalina és d'uns 40 a 60 dòlars/tona (entre 36 i 54 euros actuals). No obstant, hi ha altres estimacions que eleven el cost fins a 320 dòlars/tona (287 euros/tona).

Hi ha diverses opcions de digestors que poden ésser instal·lats als laboratoris d'alta contenció o BSL-3. Aquests digestors varien en la seva capacitat podent albergar entre 0,5 Kg (mínim) i més de 4,5 tones (màxim). En tots els diferents tipus de digestors s'inclou una cistella per a un animal individual o per a varis alhora en un cicle (BIO-Response Solutions, 2015).

Aquest sistema pot ser controlat i dut a terme per una única persona sempre i quan el procés de càrrega no sigui manual. L'operari s'encarrega d'establir els paràmetres adequats a partir de les carcasses introduïdes i a continuació les quantitats de solució alcalina i aigua s'afegeixen automàticament. A partir d'aquest punt, l'operari inicia el cicle i aquest, un cop començat, es duu a terme automàticament (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004; BIO-Response Solutions, 2015). En el cas dels digestors proporcionats pel grup BIO-Response Solutions, tenen un sistema estàndard de control automàtic tant de la temperatura com del pH.

Els avantatges que presenta la hidròlisi alcalina són que en una sola operació es produeix alhora l'esterilització (destrucció completa de patògens) i la digestió del material, es redueix notablement el volum de la fracció de sòlids, tot i que la fracció líquida inactivada augmenta respecte a la inicial, i l'emissió d'olors és bastant limitada (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

Per altra banda, aquest mètode també presenta certs desavantatges com per exemple l'efluent que s'obté al final del procés que és molt ric en nutrients però pot suposar un problema un cop s'aboquen als sistemes de tractament d'aigües residuals (Gwyther *et al.*, 2011). Per altra banda existeix el problema de que hi ha materials com cordes, cròtals, les fibres vegetals, el paper o la fusta que queden esterilitzats però no poden ésser digerits per la hidròlisi alcalina (Disposal Carcass Group *et al.*, 2004).

El *Centre de Recerca en Sanitat Animal* (CReSA) compta amb un digestor per al tractament de les carcasses dels animals utilitzats per a l'experimentació. Es detalla breument el funcionament a continuació. En primer lloc s'ha de desbloquejar i obrir la tapa del digestor, sempre fent servir una pantalla ja que està tot automatitzat. Les carcasses dels animals es troben dins de bosses, i aquestes dins de contenidors per contenir possibles trencaments de les bosses. Les bosses, que són d'un material especial que amb la calor i solució alcalina són digerides, permeten evitar el contacte directe del treballador amb la carcassa. Les bosses poden contenir els animals sencers o bé, si s'han fet prèvies necròpsies, poden trobar-se a trossos. Es llencen a una cistella metàl·lica plena de forats dins del contenidor d'acer inoxidable, que està comunicat amb les vàlvules que introduiran la resta de components per a que es dugui a terme la digestió. Un cop carregades les carcasses, es tanca la tapa i es bloqueja per tal de començar el cicle.

Els paràmetres que es fan servir per a un cicle de digestió alcalina en aquesta instal·lació són els següents: la temperatura d'esterilització és de 149° durant 60 minuts, la proporció d'aigua (depenent del material orgànic) és del 125% i el percentatge de KOH és del 23%. El cicle consta de diverses etapes començant per la càrrega del producte, un test d'integritat en el qual hi ha una pressió sostinguda i es comprova la hermeticitat del contenidor, ompliment d'aigua i KOH, la digestió a temperatura alta i esterilitzant, una fase de desguàs, un aclarit en calent, esbandit en fred i per últim el desodoritzant.

La duració del cicle complet està entre 5 i 8h. La càrrega màxima que es pot dipositar en aquest digestor és de 300kg, i es controla per una balança incorporada en el mateix contenidor d'acer

inoxidable; és important no superar aquest màxim ja que un cop s'hi afegeix l'aigua i la solució alcalina el pes augmenta arribant a ser més del doble del propi de les carcasses.

El cicle del digestor es controla externament per unes pantalles en les que es poden veure totes les vàlvules connectades al digestor (Fig. 5). D'aquesta manera, es pot controlar que les vàlvules s'obren o es tanquen en el moment adient, que s'arriba a les condicions predeterminades i que tot procedeix correctament. En cas que hi hagi quelcom que no funcioni correctament saltarà una alarma que avisarà els operadors per a que solucionin el problema.

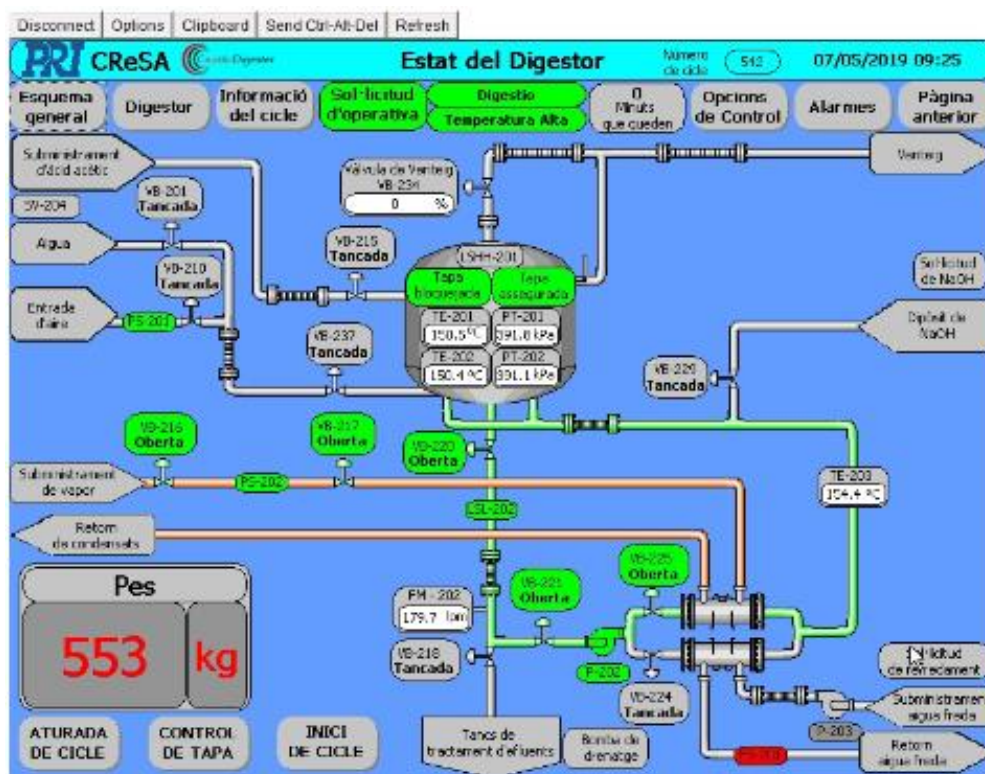


Figura 5. Pantalla de control del digestor present al CReSA.

Un cop acabat el cicle complet es procedeix a la recollida dels residus. Dels 300kg de carcasses que s'introdueixen a l'inici del cicle, en acabar, aquesta quantitat es redueix aproximadament a uns 15-30kg. La recollida de les restes es fa manualment, per tant s'ha de desactivar el sistema automàtic. En primer lloc s'ha de buidar el digestor de les restes líquides obrint la vàlvula adequada. Aquestes restes líquides aniran a un dipòsit específic i d'allà seran bombejades cap a l'exterior on seran recollides per una empresa autoritzada.

Pel que fa als sòlids, un cop es desbloqueja la tapa i s'obre, es procedeix a aixecar la cistella que conté aquestes restes amb una petita grua de manera que es pugui extreure del contenidor d'acer inoxidable del digestor. Es deixa la cistella al terra on s'ha posat prèviament un plàstic,

s'obre una porta lateral practicable i s'extreuen les restes ósses i alguns materials no digerits amb una pala. Aquestes restes es dipositen en bidons els quals seran incinerats, més endavant.

Cal netejar el digestor un cop s'acaba d'utilitzar. S'hi introdueix aigua i es fa girar el filtre del fons per tal d'acabar de treure les restes més petites que no han quedat retingudes a la cistella. Per altra banda, també s'han de treure restes de plàstic de les bosses que no s'hagin digerit i que poden obturar les vàlvules d'entrada d'aigua.

Aquest procediment pot ser controlat mitjançant una única persona sense la necessitat d'estar present durant les 5h del cicle (a diferencia del que passa amb l'incinerador) ja que es va seguint per pantalla i el cicle està automatitzat.

La digestió alcalina a CReSA queda restringida a l'eliminació de carcasses procedents d'experiments amb patògens no zoonòtics. Encara que les carcasses estan en bosses i aquestes en contenidors, no precintats, que no s'introduran al digestor, la manipulació de les bosses per abocar-les al digestor pot en algun moment provocar el contacte del personal amb carcassa infectada; l'avaluació de risc determinà que per evitar aquests contactes imprevistos les carcasses a processar foren aquelles que no poden transmetre malaltia als éssers humans. Aquest mètode d'eliminació de les carcasses és més econòmic que la incineració ja que els materials (aigua i NaOH) no són excessivament cars i la despesa d'energia és prou menor que en l'incinerador.

3. Autoclau

Els autoclaus usen alta pressió i vapor d'aigua per destruir microorganismes, de manera que fan que el material perillós passi a estar inactivat. Per a una esterilització efectiva, els materials i l'ambient on es troben han d'estar saturats amb vapor d'aigua. Les bosses d'aire o subministraments de vapor insuficient, o de mala qualitat, poden fer impossible l'esterilització efectiva. Per assegurar la descontaminació efectiva dels residus infecciosos es pot traçar el cicle mitjançant indicadors microbiològics d'autoclau i realitzar validacions periòdiques de funcionament d'autoclau (World Health Organization, 2004).

L'esterilització eficaç amb vapor té com a principis clau la qualitat del vapor, la pressió i la temperatura de la cambra i el temps. El vapor ha de ser vapor saturat sec. L'ús de cicles d'autoclau estàndard produeix normalment una reducció de 10^{-3} a 10^{-6} en organismes viables; no obstant això, alguns organismes com els prions poden requerir temps o temperatures addicionals per aconseguir la reducció desitjada de la bio-càrrega (Bearss *et al.*, 2017).

Les directrius nacionals i internacionals estableixen l'ús de l'autoclau com a mitjà adequat per a esterilitzar material infeccios. Els fabricants poden fer recomanacions durant la instal·lació que serveixen de punt de partida per validar cicles d'autoclau per a líquids, estris i productes secs però la informació sobre cicles d'esterilització de carcasses animals no es troba fàcilment; no es publicada pels propis centres ni figura a les recomanacions dels fabricants. La penetració del vapor dins de les carcasses per a l'esterilització de les mateixes és tot un desafiament que ve donat, no només per una major grandària i pes (el rang de pes és força variable, i depenent d'edat i sexe), sinó també de la massa muscular i dels diferents òrgans i teixits dels animals (Santacroce *et al.*, 2015).

Els principis de l'esterilització a vapor que s'utilitzen per a la descontaminació de residus biològics són idèntics als utilitzats per a la desinfecció i esterilització d'instruments a la indústria sanitària. No obstant això, la naturalesa d'aquests tipus de residus biològics imposa reptes addicionals per al procés d'esterilització i la seva validació. Aquests desafiaments inclouen la variabilitat de la massa i la densitat tèrmica, l'alt contingut d'aigua, la presència de bosses d'aire atrapades, les diferències en el disseny, l'eficiència i les capacitats del cicle d'esterilització (Bearss *et al.*, 2017).

En els cicles estàndard d'autoclau utilitzats en la indústria sanitària, l'esterilització de vapor s'utilitza per esterilitzar instruments fets amb materials impermeables i que condueixen fàcilment la calor, com ara el metall i el plàstic, o bé tèxtils i altres materials porosos que poden ser penetrats eficaçment per el vapor a la cambra d'autoclau. Això no succeeix en l'esterilització d'òrgans, teixits i cadàvers animals. Aquests materials no condueixen fàcilment la calor; en el cas de les carcasses, alguns teixits (per exemple, pell, greix i múscul) no tenen la porositat suficient per permetre la penetració efectiva del vapor i actuen com aïlladors, impeding la conducció de calor als teixits més interiors. Com a resultat, s'ha de programar un temps addicional en el cicle d'autoclau per assegurar-se que s'aconsegueixen temperatures suficients d'esterilització en tots els punts del residu de risc biològic, en aquest cas, la carcassa, dins l'autoclau (Bearss *et al.*, 2017; CReSA, 2018).

El contingut d'aigua dels residus animals és un aspecte limitant per a l'esterilització. L'alt contingut d'aigua frena encara més la conducció de calor a través dels teixits a causa de la gran capacitat de l'aigua per absorbir energia calorífica. A més, l'elevat contingut d'aigua d'aquests materials determina que s'hagi d'utilitzar un cicle d'esterilització líquid per evitar la vaporització del contingut d'autoclau al final del cicle (Bearss *et al.*, 2017).

Les carcasses, teixits i residus d'animals poden ser embolicats abans de l'esterilització per prevenir la contaminació del personal i del medi ambient, contenir els materials i afavorir el mantenir net l'autoclau. L'embolicament consisteix normalment en 3 capes de bosses de plàstic no impermeables però resistents a la calor. Tot i que és necessari, aquest empaquetat pot frenar la penetració de vapor i calor a les carcasses amb risc biològic. A més, qualsevol bossa d'aire creada i atrapada per aquest empaquetat funcionarà com a aïllant i impedirà la conducció de calor. Per tant, s'ha de tenir cura en empaquetar el material (la/es carcassa/es) per tal d'assegurar-se que cap de les capes estigui del tot tancada, o que siguin capes poroses i es mantingui/permeti els moviment d'aire dins i fora del paquet (Bearss *et al.*, 2017).

Els autoclaus que es controlen mitjançant ordinador, utilitzen el concepte de valor F_0 el qual avalua l'efecte del temps a diverses temperatures al llarg del cicle per tal d'assolir l'esterilització a 121°C durant 15 minuts (Bearss *et al.*, 2017). Això permet disminuir l'exposició dels materials a altes temperatures i per tant reduir el temps del cicle evitant danys (Tuttauner, 2018). Aquest valor es calcula a partir d'algoritmes des del moment que el sensor de temperatura arriba a la temperatura desitjada fins al final del cicle d'esterilització (Tuttauner, 2018).

Hi ha algunes publicacions sobre validacions de cicles d'autoclau per a carcasses d'animals. Bearss i col·laboradors, en 2017, estableixen com a estàndard per esterilització per autoclau de carcasses, el cicle líquid amb un temps d'exposició de 8 hores a 121°C, mentre que l'estàndard del cicle sec per a productes d'escombraries i bugaderia és de 4 hores a 121°C, clarament més curt i més econòmic energèticament.

Per altra banda, Santacroce i col·laboradors (2015), també ha reportat la validació del cicle d'autoclau per carcasses, que en aquest cas estaven prèviament congelades simulant condicions operatives, però que es deixaven descongelar abans d'introduir-les al autoclau.. En aquest cas es va provar el cicle a 121°C a una pressió de 2.14atm (1 atm de sobre-pressió) durant 2 hores; amb aquest cicle les bosses de bugaderia, que superaven els 11kg, van ser esterilitzades completament. Per contra, si es feien servir els mateixos paràmetres de cicle amb una biomassa animal equivalent, la esterilització obtinguda era incompleta, i feia falta allargar la durada del cicle fins les 4 hores.

Que la mida i el pes importen ja ha estat indicat per altres autors com Santacroce i col·laboradors. En cicles d'autoclau que fracassaven en la inactivació dels testimonis biològics col·locats dins de les carcasses d'animal gran, gall d'indi, amb un pes al voltant dels 7,5 kg; les

carcasses d'animal petit, entre 1 i 2 kg, sí va poder ser efectivament inactivades pel cicle esmentat.

Alguns avantatges que presenta el mètode de l'autoclau són: es tracta d'una tecnologia relativament senzilla i fàcil d'implementar i molt estesa, els costos són relativament baixos i hi ha una gran oferta de fabricants i mides diferents per poder-se adaptar a les necessitats de cada instal·lació (El-Haggar *et al.*, 2007).

Per altra banda l'esterilització a l'autoclau presenta certs desavantatges com ara la generació d'olors ofensives que fan necessaris sistemes de ventilació especials, que els objectes metàl·lics grans poden danyar l'autoclau (això no aplicaria a les carcasses) i que no determinen cap reducció significativa del volum del residu, la carcassa, i del pes del mateix, ja que aquests cicles no inclouen cap etapa o mecanisme d'assecamment (El-Haggar *et al.*, 2007). Addicionalment, la carcassa tractada encara estarà raonablement íntegra i això genera problemes evidents a l'hora de descartar-la ja que no pot abocar-se com a brossa municipal i requerirà recollida per gestor autoritzat encara que sigui un material no infecciós ni perillós.

Un inconvenient seriós de l'esterilització per autoclau de carcasses animals és que es espècie depenent i difícilment validable de forma genèrica. Una validació de l'autoclau per inactivació de carcasses d'animals petits no serviria per animals grans, o animals de granja (com porcs, ovelles o cabres). Això és així ja que per a animals grans es requereixen temperatures més altes i temps més prolongats per permetre que la calor/energia desitjada arribi a tots els punts de l'animal, de manera que si s'utilitzessin els paràmetres fixats per a animals petits no s'estaria inactivant realment el material.

Per altra banda, en l'esterilització per autoclau hi ha el procés de càrrega de les carcasses dins la cambra de l'autoclau, de manera que la manipulació és necessària. És per això que les carcasses que s'autoclavin no haurien d'estar infectades amb patògens zoonòtics. Carcasses infectades amb patògens zoonòtics en contenidors tancats no permetrien una bona difusió i entrada del vapor a la carcassa perquè no traspassarien tampoc el contenidor.

Pel que fa al *Centre de Recerca en Sanitat Animal* (CReSA), investigadors del centre han fet unes proves inicials de validació d'esterilització per autoclau de carcasses de conills i porcs. Per a l'estudi es van implantar als animals termòmetres registradors (dataloggers) per tal de poder controlar la temperatura assolida en diferents òrgans del cos durant el cicle. Aquests termòmetres es van disposar en l'encèfal, el cor, l'estómac, el múscul i el recte dels animals assajats (CReSA, 2018).

Pel que fa als conills, amb un pes entre 2 i 2.5Kg, es van dur a terme cicles de 175 a 195 minuts a 134°C per tal d'assegurar que les parts avaluades arribessin a 121°C durant al menys 30 minuts. A partir d'aquest estudi es va poder concloure que els conills podien ser esterilitzats de manera efectiva mitjançant aquest cicle essent les parts més fàcils d'esterilitzar el múscul i l'encèfal i les més difícils, on més trigava en arribar el vapor d'aigua, el recte i el cor (CReSA, 2018).

En porcs, l'estudi es va fer amb exemplars d'uns 20Kg de pes. En aquest cas també es van implantar cinc termòmetres en els mateixos cinc punts descrits prèviament per tal de poder controlar la temperatura real assolida en cada part de l'animal. Les dades finals mostraren que els porcs eren esterilitzats de manera eficient utilitzant un cicle de 134°C durant al menys 411 minuts (7 hores) essent les parts més fàcils d'esterilitzar el múscul i l'encèfal i les més difícils el cor i l'estomac (CReSA, 2018).

En tots els cassos es parla del tractat de les carcasses a temperatura ambient. En cas que aquestes estiguin congelades, la durada del cicle hauria de ser indubtablement superior.

Discussió

Tal i com es veu reflectit als apartats anteriors, les instal·lacions experimentals amb animals en alta contenció, i en el cas d'estudi, CReSA disposen, com a mínim, de tres potencials mètodes per tal d'eliminar les carcasses dels animals portadors de patògens, ja siguin zoonòtics o no zoonòtics. D'aquests tres mètodes, la incineració i la hidròlisi alcalina són realment efectives en la inactivació dels patògens. Per altra banda, l'autoclau no sembla ser del tot efectiu en aquesta inactivació, en períodes de temps acceptables.

Fent una comparativa pel que fa a les conseqüències ambientals, la incineració si es duu a terme de manera responsable i adequada no hauria de plantejar problemes greus per al medi ambient. Els reactors instal·lats juntament amb els incineradors redueixen molt el risc d'emissions nocives degut a la combustió del fum que es genera als incineradors.

En la hidròlisi alcalina, el principal problema ambiental són els residus líquids que es generen al final del procés. La composició, molt rica en nutrients i amb una molt elevada DBO (demanda biològica d'oxigen) d'aquests residus líquids pot generar problemes quan són abocats al sistema de recollida d'aigües residuals. És per això que és necessari separar aquests residus líquids d'altres líquids generats en les instal·lacions de bioseguretat.

El principal problema ambiental que pot ser causat per l'autoclau és el fet que les carcasses no es descomponen i queden quasi íntegres; per tant no poden ser abocades a la brossa normal no només perquè les carcasses serien reconeixibles sinó també perquè, tot i estar esterilitzades, la descomposició d'aquestes pot generar problemes d'emissions d'olors i gasos nocius.

Pel que fa al risc al que es poden enfrontar els treballadors de les instal·lacions on es duen a terme aquests mètodes, es pot veure una clara diferència entre la incineració i la hidròlisi alcalina o l'autoclau. Mentre que a l'incinerador s'aboquen els bidons sencers i ben precintats, a les altres dues tècniques és inevitable haver d'estar en contacte amb el material a tractar. Pel fet que en la hidròlisi alcalina i l'esterilització per autoclau els treballadors tenen un cert risc d'adquisició dels patògens presents a les carcasses, aquests dos mètodes només podran ésser emprats per al tractament de carcasses infectades amb patògens no zoonòtics. Per contra, si tot procedeix com està estipulat, amb contenidors perfectament tancats i segellats, a la incineració no existeix aquest risc i per tant es poden abocar amb seguretat les carcasses infectades amb patògens zoonòtics entre altres materials com les femtes d'aquests mateixos animals però també els residus sòlids obtinguts de la hidròlisi alcalina.

Es pot fer també una comparativa econòmica dels tres mètodes esmentats. En primer lloc, la incineració comporta una despesa energètica important. El primer que cal fer es encendre l'incinerador, tant la cambra com el reactor, i aquest ha d'arribar a la temperatura adequada cosa que consumeix molta energia, habitualment en forma de combustibles fòssils no renovables (gas) abans de poder començar el procés. Per altra banda, aquests incineradors assoleixen temperatures molt elevades pel que és necessari un sistema de refrigeració/ventilació a la sala on es troba que també consumeix energia. A més, els bidons han de ser carregats cada cert temps per alimentar el procés i per tant, es necessita d'una persona que estigui constantment durant tot el procés d'incineració, cosa que implica una despesa salarial extra que no és necessària en altres mètodes. L'energia que es consumeix amb la incineració és tan elevada, i bona part d'ella desaproveitada (en les rampes d'escalfament i de refredament) que als centres com el CReSA per exemple, aquest mètode s'utilitza quan es tenen una quantitat elevada de residus per tal d'optimitzar el procés; es cerca que el ratio de temps d'operació vs temps no operatiu (escalfament-refredament) sigui el més alt possible.

En segon lloc, la hidròlisi alcalina suposa també una despesa energètica però no tan elevada com la de la incineració. La temperatura a la que s'ha d'arribar en aquest mètode és menor i l'energia, en forma d'electricitat, pot venir de fonts renovables. A més els contenidors que contenen les carcasses no són destruïts a conseqüència del procés. Així doncs, mentre que el cost de la incineració s'ha reportat que oscil·la entre els 98 i els 2000 dòlars per tona, aquesta quantitat disminueix fins als 320 dòlars per tona que pot arribar a costar utilitzar la hidròlisi alcalina. A més, a diferència de la incineració, en aquest cas no es necessita a cap persona que estigui constantment alimentant el cicle al costat del digestor, si no que es controla a través d'una pantalla i es pot actuar remotament (personal de manteniment o habilitat); en cas que hi hagi cap anomalia pot ser necessari actuar físicament sobre l'equip. En el cas del CReSA hi ha però, una clara diferència en potència de processat, favorable a l'incinerador; es destrueixen més bidons/carcasses per unitat de temps.

Per últim, l'autoclau suposa també una despesa energètica deguda a les temperatures i pressions que ha d'assolir però aquesta no és tan elevada com en la incineració, i tampoc arriben a aquelles necessàries per la digestió alcalina. A més, la durada del cicle no és la mateixa si es tracta de carcasses d'animals petits que si són més grans; mentre que per animals petits els cicles són inferiors a les 4 hores per animals de més pes pot superar les 7 hores. Així doncs, com més gran sigui l'animal a autoclavar, major serà el temps que es requerirà i la conseqüent despesa d'energia. Altre cop no cal operador per alimentar el cicle la qual cosa suposa, de nou, un

estalvi, respecte a l'operativa del incinerador. No obstant, els costos que implica l'autoclau són relativament baixos fent aquest mètode més econòmic que el que seria la incineració però ens deixa un greu problema damunt la “taula”; la carcassa estarà inactivada però encara ha de ser eliminada i això implica una despesa de transport addicional, per part de companyia habilitada, a punt d'eliminació final.

Respecte a la potencial validació dels mètodes, per a la incineració aquesta no és possible dur-la a terme posat que les altes temperatures que s'assoleixen durant el procés fan que no sigui viable la instal·lació de testimonis biològics ja que quedarien incinerats. Per a la digestió alcalina no hi ha cap validació establerta fins al moment tot i que en el cas del CReSA per exemple existeix el plantejament per a dur-la a terme donat que la informació seria molt útil per establir un estàndard dels paràmetres idonis a utilitzar en el procés. Per últim, com ja s'ha mencionat anteriorment, hi ha diversos autors com Santacroce *et al.*, 2015, Bearss *et al.*, 2017 i CReSA, 2018 que han informat sobre la validació per a la esterilització per autoclau mitjançant indicadors biològics. No obstant, no es pot aplicar aquesta validació per a tot tipus de carcasses ja que els paràmetres de temperatura i temps varien en funció de certs aspectes com el pes, la quantitat de greix de l'animal, la distribució del greix, la temperatura del material de partida, etc.

Conclusions

Tot i que existeixen diversos mètodes que poden ser emprats per a la inactivació de les carcasses animals, els emprats per centres d'experimentació animal en biocontenció, com el CReSA, poden ser tres: la incineració, la hidròlisi alcalina i l'autoclau.

Malgrat que la digestió alcalina es presenta com un mètode eficaç en la eliminació de les carcasses, més econòmic i menys perjudicial per l'ambient que la incineració, aquesta no es pot deixar de dur a terme als laboratoris de bioseguretat. Això és així pel fet que la incineració, a diferència de la hidròlisi alcalina, és un mètode en el que els operadors no han d'estar en contacte amb el material i per tant s'hi poden destruir carcasses infectades amb patògens zoonòtics. A més, la digestió alcalina genera uns residus sòlids que més tard hauran de ser incinerats i/o autoclavats per tal que puguin sortir a l'exterior.

Per altra banda, l'esterilització per autoclau és una tècnica utilitzada als centres de bioseguretat de nivell 3, d'alta contenció, per l'eliminació de diversitat de residus però no per al processat o destrucció final de les carcasses d'animals. Tot i que hi ha estudis que proven l'eficàcia de l'autoclau per a la esterilització de petits animals, no hi ha els mateixos resultats per a animals més grans. És per aquest motiu que, fins al present, aquesta tècnica és emprada per a material com utensilis reutilitzables per a experiments, per la sortida de cendres a exterior de biocontenció, etc., des de les zones que poden estar contaminades o compromeses biològicament però no ha tingut aplicació sostinguda i intensa en el tractament de carcasses animals.

Referències

Referències

1. Bearss, J. J., Honnold, S. P., Picado, E. S., Davis, N. M. & Lackemeyer, J. R. (2017). Validation and Verification of Steam Sterilization Procedures for the Decontamination of Biological Waste in a Biocontainment Laboratory. *Journal of ABSA International*. **22**, 33–37.
2. BioSAFE Engineering (2011). <https://www.biosafeeng.com/87?newsid=2>
3. BIO-Response Solutions. (2015). Effluent Decontamination Systems Alkaline Hydrolysis Systems. <http://bioresponsesolutions.com/>
4. Biosecurity, A. (2017). Animal carcass disposal. *Primefact 1616, first edition Animal Biosecurity, NSW DPI*.
5. Blake, J., Carey, J., Haque, A., Malone, G., Patterson, P., Tablante, N. (2008). Poultry Carcass Disposal Options for Routine and Catastrophic Mortality. <http://www.cast-science.org/download.cfm?PublicationID=2941&File=f030eee6c1a96d4919406e1f396879496e70>
6. CReSA. (2018). Report autoclaving animal carcasses validation studies in rabbits and pigs. Estudi intern.
7. Disposal Group Health & Service, I. (2004). Carcass Disposal: A Comprehensive Review. *USDA Animal & Plant Health Inspection Service Per Cooperative Agreement 02-1001-0355-CA*.
8. Ellis, D. B. (2001). Carcass Disposal Issues in Recent Disasters, Accepted Methods, and Suggested Plan to Mitigate Future Events. <https://digital.library.txstate.edu/handle/10877/3502>
9. El-Hagggar, S. M. (2007). Sustainability of Clinical Solid Waste Management. *Sustain. Ind. Des. Waste Manag.* 293–306.
10. Gwyther, C. L., Williams, A. P., Golyshin, P. N., Edwards-jones, G. & Jones, D. L. (2011). The environmental and biosecurity characteristics of livestock carcass disposal methods: A review. *Waste Manag.* **31**, 767–778.
11. Homer, L. C., Fisher, D. J., Heflin, D. T. & Cole, K. S. (2012). Decontamination and digestion of infectious animal waste using a tissue dissolver in an animal biosafety level 3 facility. *Lab Anim. (NY)*. **41**, 327–335.
12. Ia, B., Mt, B., Aa, K., Hm, K. & Nighat, N. (2017). Traditional Methods of Carcass Disposal: A Review. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research Traditional*. **5**, 1–7.

13. Koziel, JA., Ahn, H., Glanville, TD., Frana, TS., Leeuwen, J., Lam. (2018). Lab-scale evaluation of aerated burial concept for treatment and emergency disposal of infectious animal carcasses. *Waste Manag.* **76**, 715–726.
14. Murphy, RGL., Scanga, JA., Powers, BE., Pilon, JL., Vercauteren, KC., Nash, PB. (2009). Alkaline hydrolysis of mouse-adapted scrapie for inactivation and disposal of prion-positive material. *J. Anim. Sci.* **87**, 1787–1793.
15. Neyens, E., Baeyens, J. & Creemers.(2003). Alkaline thermal sludge hydrolysis. *J. of Hazardous Materials.* **97**, 295–314.
16. OIE (2018). Disposal of dead animals. *Terrestrial Animal Health Code.* 8–13.
17. Practices. *Biosafety In The Laboratory.* (1989). <http://www.nap.edu/catalog/1197.html>
18. Rahman, S., Dvorak, T., Stoltenow, C. & Mukhtar, S. (2017). Animal Carcass Disposal Options. *NDSU extension service.* **1422**, 1–8.
19. Santacroce, J. C., Swearengen, J. & Weaver, P. (2015). Novel Approach for Validating Autoclave Cycles for Biomass in BSL-3 / -4. <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/153567601502000304>
20. Sciences Department of Crop and Soil University Cornell. (2005). Compost Bulking Materials. <http://cwmi.css.cornell.edu/compostfs5.pdf>.
21. Scudamore, J. M., Trevelyan, G. M., Tas, M. V & Varley, E. M. (2002). Carcass disposal: lessons from Great Britain following the foot and mouth disease outbreaks of 2001 Changes since the 1967 outbreak that affected carcass. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **21**, 775-787.
22. The Scientific Steering Committee. (2002). Updated opinion and report on: a treatment of animal waste by means of high temperature (150°C, 3 hours) and high pressure alkaline hydrolysis. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_ssc_out358_en.pdf
23. Tuttauner. (2018). Bulk Steam Autoclaves. <https://tuttnauer.com/medical-autoclaves/medical-waste-autoclaves/bulk-autoclave>
24. Wang, T., Wu, J., Yi, Y. & Qi, J. (2016). Optimization of process conditions for infected animal tissues by alkaline hydrolysis technology. *Procedia Environ. Sci.* **31**, 366–374.
25. World Health Organization. (2004). Laboratory biosafety manual. *Third Edition World Health Organization.* <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>